

THESIS

BONN

1967

DÜNNSCICHTCHROMATOGRAPHISCHER
NACHWEIS VON BARBITURATEN AUS
BIOLOGISCHEM MATERIAL, VOR ALLEM BLUT

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung des Doktorgrades
der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität
zu
BONN

vorgelegt von
MARITA SCHREIER
aus
DAUN

BONN 1967

LANE MEDICAL LIBRARY OF
STANFORD UNIVERSITY
300 PASTEUR
PALO ALTO, CALIFORNIA

DÜNNSCHICHTCHROMATOGRAPHISCHER
NACHWEIS VON BARBITURATEN AUS
BIOLOGISCHEM MATERIAL, VOR ALLEM BLUT

Inaugural-Dissertation
zur
. Erlangung des Doktorgrades
der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität
zu
BONN

vorgelegt von
MARITA SCHREIER
aus
DAUN

BONN 1967

Angefertigt mit Genehmigung der
Medizinischen Fakultät der Universität Bonn

Referent: Prof. Dr. Walter Paulus

Korreferent: Prof. Dr. H. Elbel

Tag der mündlichen Prüfung: 17.4. 1967

Aus dem Institut für gerichtliche Medizin der Universität Bonn
Direktor: Prof. Dr. H. Elbel

Druck: Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn

Meiner Mutter



Digitized by the Internet Archive
in 2026

I. Theoretischer Teil

1.) Einschränkung der Verkehrstauglichkeit durch Pharmaka

Bei der heute ständig steigenden Verkehrsdichte erfordert die Teilnahme am Straßenverkehr in jeder Weise höchste Aufmerksamkeit, beste Reaktionsfähigkeit und verantwortungsbewußtes Verhalten. Der Gebrauch von Arzneimitteln nimmt ganz erheblich zu, daher muß man bei einer großen Zahl von Verkehrsteilnehmern damit rechnen, daß sie unter dem Einfluß irgendwelcher Pharmaka stehen.

In den letzten Jahren wird dem Problem Medikamente und Verkehrssicherheit daher immer größere Bedeutung zugemessen. Auf der Jahresversammlung der Deutschen Gesellschaft für Verkehrsmedizin 1963 in Heidelberg forderte Professor Soehring (Hamburg) einerseits eine umfassende Information der Ärzte über die Beeinträchtigung der Verkehrstauglichkeit durch Pharmaka und andererseits eine groß angelegte Aufklärung der Verkehrsteilnehmer über die gefährliche Wirkung dieser Mittel.¹⁾

Die Bundesärztekammer hat 1964 ein Merkblatt über die Einschränkung der Verkehrstauglichkeit durch Arzneimittel herausgegeben.²⁾ Zur Unterstützung des Arztes wurden diejenigen Arzneimittel zusammengestellt, welche die Verkehrssicherheit vor allem in Kombination mit Alkohol beeinträchtigen können. Es wird dem Arzt empfohlen, bei Verordnung solcher Arzneimittel dem Patienten zu raten, zeitweise auf die Führung eines Kraftfahrzeuges zu verzichten.

Heute enthalten zahlreiche Analgetika und andere Arzneimittel, wie z.B. die modernen coronargefäßerweiternden Präparate langwirkende Barbiturate. Diese Mittel, die wiederholt und regelmäßig eingenommen werden, können eine kumulierende Wirkung haben und zu einem, oft vom Patienten selbst

nicht erkannten, chronischen Vergiftungszustand führen.³⁾

Nach dem Búrgischen Gesetz potenzieren sich hierbei gleichzeitig angewandte narkotische oder zentraltoxische Mittel mit der Giftwirkung der Schlafmittel. Die Gewöhnung an Barbiturate beruht - im Gegensatz zu Morphin, Methadon, Dolantin - vorwiegend auf einem beschleunigten Abbau. Daneben scheint eine bisher noch nicht geklárte Anpassung an das Zentralnervensystem eine Rolle zu spielen, jedoch nur während der Verweildauer des Pharmakons im Organismus.

Bereits nach einmaliger Gabe eines Barbiturates läßt sich ein beschleunigter Abbau nachweisen, der dadurch zustandekommt, daß Barbitursäurederivate diejenigen Enzyme induzieren, mit deren Hilfe sie im endoplasmatischen Retikulum der Leberzelle oxydiert werden, wie REMMER gezeigt hat.⁴⁾

Falls nun der Organismus nicht in der Lage ist, die aktivierenden Enzyme zu stimulieren, - z.B. bei Lebererkrankungen oder falls das Angebot in einmaliger oder wiederholter Dosis zu groß ist, um in der Leber schnell abgebaut zu werden, - kann es zur kumulierenden Wirkung des Barbiturates kommen.

Die Hauptsymptome der chronischen Barbituratintoxikation sind nicht nur Schläfrigkeit, sondern häufig auch, je nach eingenommener Menge, Euphorie einerseits und Depression und Gleichgültigkeit andererseits.⁵⁾

In Anbetracht der möglichen Beeinträchtigung der Verkehrstauglichkeit durch die Pharmaka, wäre es natürlich von größter Bedeutung, exakt beweisen zu können, daß ein Verkehrsteilnehmer unter dem Einfluß eines bestimmten Arzneimittels steht. Ziel experimenteller Untersuchungen müßte es sein, zu einem Pharmakon-Blutwert zu kommen, bei dem man sagen kann, daß bei dieser Pharmakon-Konzentration jeder Mensch fahruntüchtig ist. Hierbei müßten natürlich die großen individuellen Schwankungen berücksichtigt werden.

Auf große Schwierigkeiten wird man hinsichtlich der Durchführung dieser Untersuchungen stoßen, da sie mit möglichst ein-

fachen technischen Methoden geführt werden müßten. - Eine geeignete Methode hierfür scheint die Dünnschichtchromatographie zu werden, da sie schnell und zuverlässig, mit wenig Aufwand und vor allem mit wenig Material, z.B. wenig Urin oder Blut durchzuführen ist.

Über die jeweilige Konzentration eines Pharmakons im Körper und damit seine Wirkung im Augenblick - z.B. eines Unfalles - gibt der aus dem Blut bestimmte Wert Aufschluß. Nach dem heutigen Strafgesetz kann die Polizei von einer Person, die ihr verkehrsuntüchtig erscheint, eine Urinprobe nur erbitten, die zwangsweise Entnahme (Katheterisierung) ist jedoch nicht erlaubt. Eine Blutentnahme hingegen ist nach § 81 Abs. 1 der StPO gestattet. Gewöhnlich wird die Blutprobe zwecks Bestimmung des Blutalkoholwertes innerhalb der ersten Stunde nach einem Verkehrsdelikt entnommen. Meist ist die zur Verfügung stehende Urinmenge so gering, daß eventuell vorhandene Pharmaka mit Sicherheit nicht nachgewiesen werden können. In der Zeit bis zur Blut- bzw. Urinabgabe kann das Arzneimittel bereits sein Wirkungsmaximum überschritten und die Ausscheidung schon voll begonnen haben. Natürlich sind die Zeitabläufe bei jedem Medikament und bei jeder Person hinsichtlich Resorption, Wirkung, Abbau und Ausscheidung verschieden, so daß in einer angelegten Kurve, wie Osterhaus⁶⁾ angibt, kein fixer Punkt festzulegen ist, wie dies bei der Blutalkoholkurve möglich ist. Beim Nachweis des Pharmakons im Urin ist ferner daran zu denken, daß mittlerweile eine Blasenentleerung stattgefunden haben könnte und damit das gesuchte Pharmakon bereits ausgeschieden ist.

Aus dem chemischen Untersuchungswert allein heraus kann kein Zeitraum berechnet werden, zu dem eine Verkehrsuntüchtigkeit im juristischen Sinne vorgelegen hat. Jedoch sind irgendwelche Hinweise aus dem klinischen Bild, welches der Beschuldigte zur Zeit der Blutentnahme bot, und dem ermittelten chemischen Wert zu gewinnen. Ein eingehender ärztlicher Befund ist deshalb zu erheben, der mit dem Nachweis des Arzneimittels eine Beurteilung erlaubt.

Aber nicht nur der sichere positive Nachweis eines Medikamentes, sondern auch der negative kann wichtig sein. In forensischen Fällen kommt es immer häufiger vor, daß neben dem Alkoholgenuß auch eine Arzneimittelleinnahme angegeben wird. Dadurch wird in vielen Fällen versucht, eine Strafmilderung zu erreichen. Wenn nun aus der Blutprobe, die zur Bestimmung der Alkoholkonzentration entnommen wurde, das angeblich eingenommene Pharmakon nicht nachgewiesen werden kann, - die Nachweismethode muß natürlich so empfindlich sein, daß auch normale Arzneimitteldosen erfaßt werden, und die Blutprobe muß rasch nach der Tatzeit erfolgen - so kann man annehmen, daß es sich nur um eine Schutzbehauptung handelt.

2. Beziehung von Alkohol + Arzneimittel

Die Kombination von Arzneimitteln mit Alkohol spielt heute eine große Rolle. Leider ist noch nicht bekannt genug, daß Medikamente und Alkohol sich in ihrer Wirkung verstärken können, so daß bei relativ geringer Alkoholkonzentration klinisch erhebliche physische und psychische Ausfallerscheinungen auftreten können. Ganz besonders gefährlich ist die Kombination von Alkohol mit Barbituraten. - Wir selbst können über einen Fall berichten, in dem ein Mann unter dem Verdacht der Trunkenheit von der Polizei aufgegriffen wurde. Die Blutalkoholuntersuchung ergab einen Wert von Widmark 0,4⁰/oo. Im Blut wurden dünnschichtchromatographisch eindeutig Barbitursäurederivate nachgewiesen.

FÜHNER berichtete 1930 als erster über die synergistische Wirkung von Alkohol und Barbituraten.⁷⁾ ELBEL (1938⁸⁾) und PETER (1939⁹⁾) beobachteten die gleichen Auswirkungen bei der Kombination von Alkohol und Barbituraten hauptsächlich an Verkehrsteilnehmern, die Unfälle verursacht hatten. JETTER und MC.LEAN (1943¹⁰⁾) beschrieben Todesfälle, die nach gleichzeitiger Aufnahme dieser beiden Stoffe auftraten, wobei die Menge jeder einzelnen Substanz allein nicht den Tod zur Folge gehabt hätte. Der Verlauf der Intoxikation ist atypisch, er ist weder für eine Barbiturat-, noch eine Alkoholvergiftung charakteristisch. Der Tod

als Folge einer akuten Alkohol-, aber auch einer akuten Barbituratvergiftung tritt meist erst nach vielen Stunden ein. Bei synergistischer Wirkung kann der Tod sehr rasch und unerwartet eintreten, manchmal schon zwei Stunden nach Medikamentenaufnahme.

Auch in vielen Tierversuchen hat man den Alkohol-Barbital-Synergismus untersucht. CARRIERE u.a. (1934¹¹) sprachen zwar davon, daß Alkohol + Phenobarbital Antagonisten seien.

Dagegen stellen ALLEGRI (1935¹²), OLZYCKA (1935¹³), 1936), DILLE und AHLQUIST (1937¹⁴), JETTER und MC. LEAN (1943¹⁰), RAMSEY und HAAG (1946¹⁵), SANDBERG (1951¹⁶), SMITH und LOOMS (1951¹⁷), BURROS (1953¹⁸) fest, daß die synergistische Wirkung von Barbituraten und Alkohol größer ist als die Summe ihrer individuellen Wirkung, daß sie sich also potenzieren.

VON FEARN und HODGES (1953¹⁹), GRUBER (1955²⁰), ARCHER (1956²¹), WEINIG und SCHWERD (1956²²), ASTON und CULUMINE (1959²³), GRAHAM (1960²⁴), EEROLA (1961²⁵) meinen, daß Barbitursäurederivate mit Alkohol additiv wirken, das heißt, daß die Summe ihrer Einzelwirkungen ebenso groß ist wie ihre synergistische.

Oft werden nach dem Genuß von Alkohol Schlafmittel, in der Mehrzahl barbitursäurehaltige Schlafmittel, aber auch Carbamide, zur Beruhigung eingenommen, oft unkontrolliert in größerer Dosis.

Weiterhin ist daran zu denken, daß bei Personen, die unter Alkoholeinwirkung stehen und anläßlich einer nach einem Unfall oder sonst plötzlich notwendigen Operation ein barbitursäurehaltiges Kurz-narkotikum erhalten, diese Medikation eine nicht unbedeutende Gefahr in sich birgt. Gleich unheilvoll kann sich die gleichzeitige Gabe von Alkohol und Morphin oder Morphinum mit Scopolamin wie MOLLER (1952²⁶) und NAALSUND (1955²⁷) schon zeigten, auswirken.

In der vorliegenden Arbeit wurde versucht, eine Methode zu entwickeln, mit der man Barbitursäurederivate aus möglichst wenig biologischem Material, vor allem Blut, nachweisen kann.

Die in der Literatur angegebenen Methoden zum Nachweis von Barbituraten sind unterschiedlich. Man versucht, sie kristalloptisch, colorimetrisch, gaschromatographisch, papierchromatographisch, spektralphotometrisch (I.V. und I.R.), um einige Methoden aufzuzählen, nachzuweisen. In Frage kam hier in erster Linie die Dünnschichtchromatographie.

3. Zunächst etwas über die Geschichte der Chromatographie²⁸⁾. Der Beginn der Chromatographie ist mit dem Namen MICHAEL TSWETT, einem russischen Botaniker, verbunden, der 1906 durch Adsorptionschromatographie Pflanzenfarbstoffe trennte.

Blütezeit der Adsorptionschromatographie war das Jahr 1931, als KUHN, LEDERER und WINTERSTEIN das damals gerade hundert Jahre bekannte Carotin in seine Komponenten zerlegte.

Die TSWETT-Säulenchromatographie ist in erster Linie für lipophile Stoffe geeignet, wobei gewisse Schwierigkeiten bei der Identifizierung der absorbierten Substanzen auftraten. Eine Lösung dieses Problems erfolgte durch den Übergang von der geschlossenen zur sogenannten offenen Säule, zur dünnen Trennschicht also.

Unter dem Titel "Tropfenchromatographische Analysenmethode und Anwendung in der Pharmazie" beschrieben ISMAILOV und SCHRAIBER 1938 das Prinzip der Dünnschichtchromatographie. Sie streuten Aluminiumoxyd auf Glasplatten und trennten verschiedene Substanzen, die in alkoholischen Lösungen vorlagen, voneinander. Es entstanden die sogenannten "Ringchromatogramme".

WILLIAM chromatographierte an Schichten von Adsorptionsmitteln zwischen zwei Glasplatten, von denen die eine mit einem kleinen Loch versehen war, durch das Lösungen und Laufmittel auf die Schicht gebracht wurden.

MEINHARD und HALL verwandten 1949 erstmals ein Bindemittel

- Stärke -, um eine größere mechanische Stabilität zu erzielen. 1951 bauten KIRCHNER, MILLER und Mitarbeiter das Verfahren weiter aus und zeigten seine Brauchbarkeit zur Trennung und Identifizierung von Terpenen.

Während diese Autoren auf schmalen Glasplatten - Chromatostrips - arbeiteten, benutzte REITSEMA breitere Glasplatten - Chromatoplates -, auf denen nebeneinander mehrere Proben, auch zweidimensional, chromatographiert werden konnten.

Man vermochte damit einige Verbindungen zu trennen, aber zu diesem Zeitpunkt wurde jedoch die allgemeine Bedeutung der Methode noch nicht erkannt.

Die Verteilungschromatographie, die 1941 von MARTIN und SYNGE zur Trennung von hydrophilen Stoffen, z.B. Eiweißkörpern, Nucleinsäuren, Polysacchariden, geschaffen wurde, brachte einen Schritt weiter. Als Trägerstoff benutzten sie Säulen aus Kieselgel, die mit Wasser beladen waren. Sie arbeiteten mit einer mobilen organischen Phase, die die Stoffe über die stationäre wäßrige Phase transportierte. Voraussetzung hierfür war, daß die Stoffe eine gewisse Wasserlöslichkeit besaßen. Wenn die Verteilungskoeffizienten genügend verschieden sind, wandern die einzelnen Stoffe verschieden weit und können so voneinander getrennt werden.

CONSDEN, GORDON und MARTIN ersetzten nun den Träger Kieselgel durch Papierstreifen und schufen damit die Papierchromatographie, deren Grenzen aber im Rahmen dieser Arbeit nicht diskutiert werden sollen.

1956 griff STAHL den Gedanken und die Methode von REITSEMA - Chromatoplates - auf und stellte fest, daß sich sehr dünne Schichten aus feinkörnigem Kieselgel am besten für die Chromatographie bewährten. Er studierte Einflußfaktoren und Anwendungsmöglichkeiten. Auf seinen Vorschlag hin derACHEMA 1958 hin wurde die Methode standardisiert. Die entsprechenden Hilfsmittel, die sogenannte Grundausrüstung nach STAHL, wurden geschaffen.

Die wichtigsten Vorteile der Dünnschichtchromatographie sind

die ausgezeichnete Trennschärfe, die hohe Empfindlichkeit sowie die einfache und rasche Arbeitsweise.

II. Praktischer Teil

1.) Zum besseren Verständnis sei kurz die Technik der Dünnschichtchromatographie erklärt.

Zur Herstellung dünner Sorptionsschichten werden heute allgemein die von STAHL entwickelten Geräte verwandt.

Mittels eines Dünnschicht-Streichers werden 20 mal 20 cm große Glasplatten mit Kieselgel in einer Schichtdicke von 250 μ beschickt. Für fünf Glasplatten, die mit Hilfe einer Arbeitsschablone in einem Arbeitsgang hergestellt werden können, nimmt man 25 Gramm Kieselgel und vermischt diese Menge mit 50 ml destilliertem Wasser. - Kieselgel ist eine festhaltende, hochaktive, saure Trägerschicht. - Zur vollständigen Durchmischung benutzt man am besten einen elektrischen Rührstab. Nach dem Auftragen bleiben die Platten auf der Schablone liegen, bis etwa 50 % des Wassers abgedunstet ist.

Anschließend werden die Platten in einem Leichtmetall-Trockengestell im Wärmeschrank bei 120^o C eine Stunde getrocknet und in einem Exsiccator, dessen Boden mit Blaugel bedeckt ist, aufbewahrt.

Mittels einer Beschriftungsschablone - einer aus Plexiglas hergestellten flachen Brücke -, kann die Platte mit einem spitzen Stift markiert werden. Im Abstand von 15 mm von der Plattenkante wird die Startlinie, 100 mm von dieser entfernt eine weitere Querlinie, die Frontlinie, gezogen. Die zu untersuchenden Substanzen werden mit Mikropipetten untereinander den Startpunkt aufgetragen, wobei der Abstand punktförmig auf 10 - 20 mm betragen soll.

In speziell angefertigte Trennkammern - DESAGA Kammern - wird 100 ml Fließmittel gegeben.

Die beschickten Platten werden mit Hilfe eines Halterahmens in die Trogkammer gestellt. Es wird nun aufsteigend bis zur Frontlinie entwickelt. Nach dem Abdampfen des Fließmittels wird die Platte zur Sichtbarmachung der gesuchten Substanz mit geeigneten, möglichst spezifischen Reagentien besprüht.

2. Eigene Erfahrungen

In der technischen Durchführung unserer Arbeit hielten wir uns an die oben angeführte Methode nach STAHL.

Eine deutliche Trennung der Barbiturate hinsichtlich ihrer Rf-Werte erwies sich zunächst als sehr schwierig. - Unter Rf-Wert versteht man die Entfernung des Fleckmittelpunktes vom Startpunkt dividiert durch die Entfernung der Fließmittelfront von der Startlinie -. Die Rf-Werte sind bei der Dünnschichtchromatographie als Richtwerte, welche die relative Lage der Flecke innerhalb eines Chromatogrammes wiedergeben, aufzufassen. Es sollen möglichst immer Kontrollsubstanzen mitlaufen.

Als gut geeignetes Laufmittel hinsichtlich der Trennschärfe erwies sich ein Gemisch von Chloroform-Aceton-Benzol im Verhältnis 88:8:4. Beim Variieren der beiden Komponenten Benzol und Aceton um 0,5 bis 1,0 ml ließen sich hinsichtlich der Rf-Werte recht befriedigende Ergebnisse erlangen, da so die Polarität des Laufmittels einfach festgelegt werden kann.

Die Laufzeit beträgt etwa 45 Minuten. Die entwickelten Platten blieben kurze Zeit unter einem Abzug stehen, damit die leicht flüchtigen Stoffe abdampfen konnten.

Sprühmittel

Um die Barbiturate auf den Platten sichtbar zu machen, wurde mit Quecksilber-1-Nitrat-Lösung besprüht.

Dabei wurde von der in der Literatur angegebenen Zusammensetzung der Lösung abgewichen, also keine rein wäßrige 1%ige Lösung

benutzt, sondern eine Alkohol-Wasserlösung, dabei wird 1 Gramm Quecksilber-1-Nitrat in 66 ml destilliertem Wasser bis zur Sättigung geschüttelt und nach Filtration bis auf 100 ml mit Methanol aufgefüllt. Mit diesem Sprühmittel wurden die Flecke intensiver grau-schwarz als mit reiner wäßriger Quecksilber-1-Nitrat-Lösung angefärbt.

Um die Farbtintensität noch zu vertiefen, wurde die Platte anschließend, nach Trocknung mit einem Fön mit einer 1%ig methanolischen 1,8 Naphthylendiaminlösung besprüht.

Geringe Barbitursäuremengen, die mit Quecksilber-1-Nitrat-Lösung nicht erfaßt werden konnten, konnten so durch diese anschließende Besprühung mit Naphthylendiamin eindeutig nachgewiesen werden. Beim Besprühen ist darauf zu achten, daß nur ganz fein zerstäubende Sprüher verwendet werden, sonst können die auf der Dünnschicht-Platte zu suchenden Substanzen nicht gleichmäßig und exakt angefärbt werden.

Bei der Besprühung mit 1,8 Naphthylendiamin zeigte sich, daß die Platten mit Quecksilber-1-Nitrat-Lösung vorher nicht überstark angefeuchtet werden dürfen. Man soll daher nur so lange bestäuben, wie das Kieselgel der Platte spontan an Sprühmittel aufsaugt.

Zur Farbtintensivierung kann auch der Sprühvorgang auf der gleichen Platte mit beiden Sprühreagenzien abwechselnd, u.U. zwei bis drei mal wiederholt werden.

Die intensive Schwarzfärbung tritt nach etwa zwei Minuten ein. Nach sechs Stunden verfärbt sich die ganze Platte einheitlich dunkelgrau.

In der vorliegenden Arbeit wurde zur Untersuchung auf Barbiturate hauptsächlich Blut aufgearbeitet.

Über den Nachweis von Barbituraten im Blut ist nicht sehr viel bekannt, vor allem sind die genauen Versuchsanordnungen und Versuchsbedingungen nicht immer beschrieben.

A.S. CURRY (1961²⁹⁾) extrahierte nach Pufferung mit einem 0,5 M Phosphatpuffer auf pH 7,2 mit Chloroform. Aus dem russischen

Schrifttum stammt eine Arbeit von V.J. LOBANOV³⁰⁾, der die Barbitursäurederivate in ihre Iso-nitroso-Barbitursäureverbindung überführt und sie als solche nachweist.

Einige papierchromatographische Untersuchungen, die der etwas modifizierten STAS-OTTO-Extraktion angeschlossen wurden, wurden von J. BÄUMLER³¹⁾ und H.H. FRY³²⁾ veröffentlicht, ebenso von ANTI ALHA³³⁾.

1964 erschien ein weiteres Forschungsergebnis von A.S. CURRY, der nun die Barbiturate im schwach sauren Milieu - pH 6,5 -, mit Chloroform extrahierte und colorimetrisch die Barbitursäure mittels Dithizon bestimmte.

Wichtig scheint also bei der Extraktion der Barbiturate das pH zu sein, wobei verschiedene Autoren im sauren, die andern im schwach alkalischen Milieu arbeiten.

Es ist heute weitgehend bekannt, daß die Barbiturate im Blut an Eiweiß gebunden vorliegen (TOSCHIO KAWAHARA³⁵⁾, GWENDOLYN B. CARSON, CLAYTON S. SMITH³⁶⁾). TOSCHIO KAWAHARA und FR. ROLF PREUSS³⁷⁾ weisen darauf hin, daß bei der Aufarbeitung nach STAS-OTTO eine beträchtliche Menge an Barbituraten verloren geht.

3. Vorversuche

Zunächst wurden zu je zwei ml arzneimittelfreiem Blut 5, 10, 15, 20, 25 und 30 Gamma Phenyläthylbarbitursäure und in einer anderen Versuchsreihe Diaethylbarbitursäure gegeben. Die Enteiweißung erfolgte mit einer 10 % igen Weinsäure bis zur sauren Reaktion, anschließend die Extraktion mit Chloroform, dann mit Äther. Beide Auszüge wurden getrennt im Vakuum vom Lösungsmittel befreit. Der Rückstand wurde mit 0,2 ml Methanol aufgenommen und die Lösung auf die vorher markierten Punkte der Startlinie der Dünnschicht-Platte aufgetragen.

Die weitere Untersuchung erfolgte wie oben beschrieben. Auf diese Weise konnten weder Luminal noch Veronal nachgewiesen werden.

Es wurden zahlreiche dieser Vorversuche gemacht, das Blut mit

den verschiedensten Säuren und Säurekonzentrationen enteiweißt, in verschieden saurem oder basischem Milieu extrahiert. - Als Pufferlösung wurde u.a. eine 0,2 M Natriumhydrogenphosphat- und eine 0,1 M Citronensäure-Lösung in verschiedenen Mischungsverhältnissen benutzt. Alle diese Untersuchungen führten jedoch zu keinem eindeutigen Barbitursäurenachweis aus dem Blut.

DEININGER³⁸⁾ veröffentlichte 1955 eine Arbeit über den papierchromatographischen Nachweis von Barbituraten. Die von ihm angegebenen Versuchsbedingungen wurden für die Dünnschichtchromatographie abgewandelt übernommen.

Einem ml Blut wurden drei ml Pufferlösung vom pH-Wert 3 zugesetzt, - fertige Pufferlösung Titrisol Merck - dann 0,4 ml einer 10 % igen Magnesiumchlorid-Lösung. Das so gepufferte und enteiweißte Blut wurde in einem 50 ml Scheidetrichter dreimal mit 30 ml Äther ausgeschüttelt. Dabei wird das Blut hämolytisch, der Ätherrückstand sieht grünlich-bräunlich aus. Da sich der Ätherauszug als zu wenig rein erwies, wurde er durch eine Kieselgel-Säule - Korngröße 0,05 - 0,2 mm - filtriert. DEININGER verwendete zur Reinigung Adsorptionskohle. In die Spitze einer Pipette mit einem Durchmesser von einem Zentimeter wurde ein winziger Wattepfropf gebracht und die Pipette mit 50 mg des obengenannten Kieselgel gefüllt. Durch diese kleine Säule wurde nun der Auszug filtriert. Der Vorgang kann durch Anschluß ans Vakuum beschleunigt werden. Der so gereinigte Ätherextrakt wird in 100 ml Kolben (mit Schliffstopfen) auf dem Wasserbad bei 60° C verdunstet und der Rückstand mit 0,2 ml Methanol aufgenommen und punktförmig auf den Startpunkt der Dünnschichtplatte aufgetragen. Um möglichst kleine Flecken zu erhalten, wurde das Lösungsmittel während des Auftragens mit Hilfe eines Föns abgedampft.

Nach dieser Aufarbeitung konnte ein eindeutiger Nachweis von Barbitursäurederivaten erhalten werden.

Mit den folgenden vierzehn Barbituraten wurden Modellversuche angestellt:

- 1) 5-Isoamyl-5-äthylbarbitursäure (Amobarbital)
- 2) Diäthylbarbitursäure (Veronal)
- 3) Allylisopropylbarbitursäure (Aprobarbital)
- 4) Phenyläthylbarbitursäure (Luminal)
- 5) Iso-Butyl-allylbarbitursäure (Butalbital)
- 6) Amyl-Bromallylbarbitursäure (Rectidon)
- 7) 5-(1'cycloheptenyl)-5-äthylbarbitursäure (Medomin)
- 8) N-methyl-äthylphenylbarbitursäure (Prominal)
- 9) Allyl-Bromallylbarbitursäure (Bralobarbital)
- 10) Cyclopentenylallylbarbitursäure (Cyclopal)
- 11) Diallylbarbitursäure (Allobarbital)
- 12) 1-methyl-5-(1'cyclohexenyl)-5-äthylbarbitursäure (Evipan)
- 13) 5-Isopropyl-5-(2'Bromallyl)-barbitursäure (Noctal)
- 14) Cyclohexenyläthylbarbitursäure (Phanodorm)

Die Nachweisgrenze lag bei 5 γ pro ml Blut.

Nach diesen Modellversuchen wurde der Nachweis von Barbituraten im Blut nach oraler oder i.v. Aufnahme studiert.

Die Blutproben stammen z.T. von Verkehrsteilnehmern, die als fahruntüchtig aufgefallen waren, jedoch im Blut keine wesentliche Alkoholkonzentration aufwiesen, teils von Barbiturat-Vergiftungen (Selbstmorde und Selbstmordversuche). Ein großer Teil Untersuchungsmaterials stammt aus Eigenversuchen von Studenten. Weitere Blutproben verdanken wir einer gynäkologischen Station, die Evipan als Kurzsnarkotikum verwendete.

Fälle der ersten Gruppe:

Fall 1)

P.S., ♂, 19 Jahre, verursachte einen Verkehrsunfall, wurde bewußtlos aufgefunden, Blutalkoholuntersuchung negativ. Die dünn-schichtchromatographische Untersuchung auf Barbiturate war deutlich positiv, wobei Cyclopal festgestellt wurde. Später gab Patient an, daß er eine Stunde vor dem Verkehrsunfall ein Barbiturat ge-

nommen habe. Art und Mengen wurden nicht angegeben.

Fall 2)

J. Str., älterer Mann, vor 2 Tagen aus dem Krankenhaus entlassen, hatte nach Angabe von Angehörigen gegen 21⁰⁰ Uhr Tabletten eingenommen. Eine Stunde später wurde er tot aufgefunden. Blutalkoholkonzentration nach Widmark 2,00 ‰ und nach ADH 2,09 ‰. Die 8 Tage spätere Untersuchung an 1 ml Blut war deutlich positiv. Es handelte sich wahrscheinlich um ein Kombinationsschlafmittel, denn im Chromatogramm färbten sich mit Quecksilber-l-Nitrat zwei Flecke mit unterschiedlichen Werten schwarz an. Nun wurde auch mit verschiedenen Vergleichssubstanzen ein- und zweidimensional chromatographiert. Danach könnte es sich um Doriden + Veronal gehandelt haben. Auch aus 5 ml Urin, welcher bei pH-Wert 3 extrahiert wurde, konnte ebenfalls ein Kombinationsschlafmittel nachgewiesen werden.

Fall 3)

K.W., ♂, 50 Jahre, wurde in tiefer Bewußtlosigkeit wegen Verdachts einer Gehirnblutung in die Neurochirurgische Klinik eingeliefert. Die Blutalkoholkonzentration war nach Widmark 1,61 ‰, nach ADH 1,66 ‰. In der nachfolgenden dünn-schichtchromatographischen Untersuchung konnten in 1 ml Blutserum Prominal + Aprobarbital gefunden werden.

Fall 4)

L.G., ♀, ältere Frau, tot aufgefunden. Die Blutalkoholkonzentration war nach Widmark 1,64 ‰ und nach ADH 1,54 ‰. In 1 ml Blut wurde dünn-schichtchromatographisch eine mit Quecksilber-l-Nitrat anfärbbare Substanz mit sehr niedrigem Rf-Wert ermittelt. Eine genaue Identifizierung des Arzneimittels war nicht möglich, da Untersuchungsmaterial zu gering war (1 mal).

Fall 5)

J., ♂, 60 Jahre, wegen angeblicher Volltrunkenheit wurde von der

Polizei eine Blutprobe veranlaßt. Die Blutalkoholkonzentration war nach Widmark 0,40 ‰, sie stand im auffallenden Gegensatz zum klinischen Bild der Volltrunkenheit. Dünnschichtchromatographisch konnten Medomin + Aprobarbital festgestellt werden.

Fall 6)

P.J., ♂, 20 Jahre, nach einem Verkehrsunfall wurde zum Zwecke der Wundversorgung im Krankenhaus ein Kurznarkotikum verabreicht. Die Blutalkoholkonzentration lag bei Widmark 1,37 ‰, bei ADH 1,33 ‰. Fünf Minuten später erfolgte die Blutentnahme (laut Polizeibericht). Interessant ist, daß dünn-schichtchromatographisch neben dem unveränderten Baytinal die entschwefelten Produkte des Kurz-narkotikums schon nachgewiesen werden konnten. Der Metabolit von Baytinal ist Butalbital.

Fall 7)

F.K., ♀, 47 Jahre, erhielt im Krankenhaus nach einem Verkehrsunfall zwecks Wundversorgung das Kurz-narkotikum Trapanal. Die Blutentnahme erfolgte fünf Minuten später (laut Polizeibericht). Dünnschichtchromatographisch wurde neben dem unveränderten Trapanal der Metabolit Pentobarbital gefunden. Der Widmark-Wert lag in diesem Falle bei 0,11 ‰ und ADH bei 0,04 ‰.

An dieser Stelle der Arbeit soll noch einmal, in Verbindung mit Fall 6 und 7, darauf hingewiesen werden, welche große Gefahr eine Kurz-narkose bei Personen, die unter Alkoholeinwirkung stehen, darstellt.

Fall 8)

Fünffähriges Kind, welches nach Angaben der Eltern 40 Tabletten Veronal eingenommen hatte, wurde in die Kinderklinik aufgenommen. Am Aufnahmetag wurden drei Austauschtransfusionen durchgeführt. Nach jeder Transfusion wurde eine Blutprobe entnommen. Zur Unter-

suchung stand weiterhin Urin von den drei folgenden Tagen zur Verfügung. Aus allen Proben konnte dünn-schichtchromatographisch Veronal unverändert deutlich nachgewiesen werden.

Fall 9)

H.J., ♂, 60 Jahre, nahm nach späteren Angaben 20 Tabletten Phano-dorm, wurde bewußtlos ins Krankenhaus eingeliefert, Blutentnahme 12 Stunden nach der Tabletteneinnahme. Der dünn-schichtchromato-graphische Nachweis von Phanodorm war deutlich positiv.

Fall 10)

P.J., ♂, 42 Jahre, Selbstmordversuch mit 20 Tabletten Optalidon, Blutentnahme etwa zwei Stunden nach Medikamentenaufnahme. Aus 1 ml Blut konnte das in Optalidon enthaltene Butalbital dünn-schichtchromatographisch nachgewiesen werden.

Fall 11)

F.H., ♀, 47 Jahre, nach Auseinandersetzung mit dem Ehemann 9 Ta-bletten Medomin eingenommen, Blutentnahme 14 Stunden später, Me-domin wurde im Chromatogramm gefunden.

Fall 12)

A., ♂, 56 Jahre, nach Angabe der Angehörigen unbekannte Tablet-tenmenge eingenommen. Tod 8 Stunden später, den Rf-Werten nach könnte es sich um Medomin + Veronal gehandelt haben.

Fall 13)

H.X., ♂, 67 Jahre, nach eigenen Angaben am Abend Suizidversuch mit 10 Tabletten Speda, da diese Dosss nicht ausreichte, nahm er am folgenden Morgen nochmals 7 Tabletten. Um 12³⁰Uhr Aufnahme des leicht Bewußtlosen im Krankenhaus, wo sogleich eine Blutprobe ent-nommen wurde. Aus 1 ml Blut konnte Speda (5-vinyl-5-(1'methylbu-tyl-)Barbitursäure) unverändert nachgewiesen werden.

In der nachstehenden Tabelle 1 sind die Routinefälle - betrunken erscheinende Verkehrsteilnehmer mit negativem oder geringem Blutalkoholgehalt - und die Selbstmorde bzw. Selbstmordversuche noch einmal tabellarisch dargestellt.

Tabelle 1

Fall	Substanz	eingegenommene Menge	Zeitintervall zwischen Einnahme und Blutentnahme	Ergebnis	Metabolit	Blutalkoholkonzentration a) Widm. b) ADH	Sonstige Befunde
1	Cyclopal	200 mg	1 Std. (?)	+		a) 0,00 ‰ b) 0,00 ‰	
2	Doriden + Veronal	?	36 Std., bei der Obduktion	+		a) 2,00 ‰ b) 2,09 ‰	
3	Prominal + Aprobarbital	?	?	+		a) 1,61 ‰ b) 1,66 ‰	
4	Substanz mit niedrigerem Rf	?	?	+		a) 1,64 ‰ b) 1,54 ‰	
5	Medomin + Aprobarbital	?	?	+		a) 0,40 ‰ b) 0,40 ‰	
6	Trapanal	500 mg	5 Minuten	+	Pentobarbital	a) 0,11 ‰ b) 0,04 ‰	
7	Baytinal	2000 mg	5 Minuten	+	Butalbital	a) 1,37 ‰ b) 1,33 ‰	
8	Veronal	40 Tabletten (?)	3 mal Austauschblut	+			3 Urinproben Veronal:Pos.

Fall	Substanz	eingegenommene Menge	Zeitinter- vall zwi- schen Ein- nahme und Blutentnahme	Ergeb- nis	Metabolit	Blutalko- holkonzen- tration a) Widm. b) ADH	Sonstige Befunde
9	Phano- dorm	20 Tabletten	12 Std.	+			
10	Optali- don (1 g Barbitu- rat)	20 Drag.	2 Std.	+			
11	Medomin (1,8 g Barbitu- rat)	9 Tabletten	14 Std.	+			
12	Medomin + Vero- nal	?	40 Std. später Ob- duktion	+			Brust- höhlen- flüss. Medomin positiv
13	Speda (2,55 g Barbitu- rat)	17 Tabletten		+			

Eigenversuche

Mit diesen sollte der Versuch unternommen werden, etwas über die zeitliche Nachweismöglichkeit von barbitursäurehaltigen Arzneimitteln aussagen zu können.

In der nachfolgenden Tabelle sind die Eigenversuche zusammenfassend dargestellt. Man sieht, daß es gelegentlich zu individuellen Schwankungen kommen kann, andererseits läßt sich aber schon aus der relativ kleinen Zahl von Untersuchungen sagen, daß einzelne Barbiturate relativ lang und andere nur kurze Zeit nach Aufnahme im Blut nachgewiesen werden können.

MOESCHLIN³⁹⁾ teilt die Schlafmittel in

- a) langsam eliminierte, gefährliche
- b) rasch eliminierte und relativ weniger gefährliche Mittel

ein, wobei er Veronal, Dial und Luminal zur Gruppe a), Seconal, Phanodorm, Medomin und Evipan zur Gruppe b) zählt.

Tabelle 2

Fall	Substanz	Menge	Nachweis Stunden nach Aufnahme													
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	14			
1	Medomin	400 mg	+		+		+									
2	Medomin	400 mg				+		+					+			
3	Medomin	200 mg	+	+	+		+						+			
4	Phanodorm	200 mg	+		+		+									
5	Phanodorm	400 mg	+	+	+		+									
6	Evipan	375 mg	+	+	+		-									
7	Evipan	250 mg	(+)		-		-									
8	Medional = Veronal	500 mg		+	+		+		+							
9	Cyclopal	200 mg	(+)	(+)	(+)		-									
10	Cyclopal	400 mg	+	+	+		+									
11	Cyclopal	200 mg	+						+				(+)			
12	Somnifen = Veronal 100 mg Aprobarbital 125 mg	275	+	+	+	(+)	+									

Fall	Substanz	Menge	Nachweis Stunden nach Aufnahme													
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
13	Neravan	200 mg	+		+		+									
14	Neravan	200 mg					+		(+)		(+)	-				
15	Neravan	200 mg									(+)	-				
16	Neravan	200 mg									+	+				
17	Optalidon	3 Dragees = 150 mg Butal- bital		+				+								
18	Optalidon	1 Dragee = 50 mg Butal- bital	+		-			-								
19	Optalidon	1 Dragee = 50 mg Butal- bital	+		+		(+)									
20	Lonarid	1 Tabl. = 30 mg Amobar- bital	(+)		-			-								
21	Lonarid	1 Tabl. = 30 mg Amobar- bital	+		-			-								
22	Spasmo-Dolviran	1 Tabl. = 50 mg Luminal	+					(+)			-					

Fall	Substanz	Menge	Nachweis Stunden nach Aufnahme													
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	14			
23	Spasmo-Dolviran	1 Tabl. = 50 mg Luminal	+		(+)		-									
24	Spasmo-Dolviran	1 Tabl. = 50 mg Luminal	+		(+)		-									
25	Dolviran	1 Tabl. = 50 mg Luminal	(+)		-		-									
26	Dolviran	1 Tabl. = 50 mg Luminal	+		-		-									
27	Spasmo- Cibalgin	1 Dragee = 63 mg Dimethyl- aminophenazon- Allobarbital	+	+	(+)(+)(+)		-		-							
28	Isoptin S	1 Dragee = 20 mg Pento- barbital	(+)		-		-									
29	Isoptin S	1 Dragee = 20 mg Pento- barbital	-		-		-									
30	Isoptin S	1 Dragee = 20 mg Pento- barbital	(+)		-		-									
31	Evipan	1 g i.v.	(+)						-							

Fall	Substanz	Menge	Nachweis Stunden nach Aufnahme													
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	14			
32	Evipan	1 g i.v.	+			+				(+)						-
33	Evipan	1 g i.v.	+						(+)							
34	Evipan	0,5 g i.v.	+			(+)										
35	Evipan	1,0 g i.v.	+	+				(+)								
36	Evipan	1,0 g i.v.			+											
37	Evipan	1,0 g i.v.				(+)										

(+) = Beim Durchfeuchten der Dünnschichtplatte mit Quecksilber-1-Nitratlösung erscheinen weiße Flecke, die auch nachgesprüht werden und beim Trocknen des Kieselgels wieder verschwinden.

Einige Anmerkungen zu Tabelle 2

Die Versuchsbedingungen wurden normalen Gegebenheiten angepaßt. Das subjektive Empfinden war bei den einzelnen Personen verschieden, die Stimmung war teils depressiv, teils euphorisch.

Die Versuche wurden am Tage durchgeführt. Die Versuchspersonen, welche nicht (dies gilt nicht für die Arzneimittel Lonarid, Optalidon, Dolviran, Spasmo-Dolviran, Spasmo-Cibalglin, Isoptin S) durch intensive Beschäftigung wachgehalten wurden, schliefen recht bald ein. Wir konnten auch eine einfache Beziehung, wie sie in der Literatur von P.M.G. BROUGHTON, G. HIGGINS und R.P.O. BRIEN⁴⁰⁾, IRVING SUNSHINE und EARL R. HACKETT⁴¹⁾, T. WRIGHT⁴²⁾ angegeben wird, zwischen der Konzentrationshöhe des Barbiturates im Blut und den Symptomen - Schlafbedürfnis, unkontrolliertes Handeln, Euphorie - beobachten. Einige Versuchspersonen, die nach einer Normal-Barbiturat-Dosis neun Stunden geschlafen hatten, klagten darüber, daß ihr Koordinationsvermögen weitgehend aufgehoben sei. In diesen Fällen wurde noch nach dieser Zeit das betreffende Schlafmittel im Blut nachgewiesen (Fall 2, 11, 16 in Tabelle 2).

Diskussion

In der vorliegenden Arbeit wurde darauf hingewiesen, welche Gefahren der Verkehrstüchtigkeit aus der Einnahme von Arzneimitteln in Verbindung mit Alkohol entstehen können. Der Nachweis von Arzneimitteln im Blut von Verkehrsteilnehmern kann daher eine sehr wichtige Rolle spielen. In der vorliegenden Arbeit konnte gezeigt werden, daß ein solcher Nachweis von Normaldosen barbiturhaltiger Pharmaka aus kleinsten Mengen Blut (1 ml) möglich ist.

Von DEININGER wurde 1955 eine Methode zur papierchromatographischen Darstellung angegeben. Dieses Verfahren wurde von uns für die Dünnschichtchromatographie der Barbiturate modifiziert. Die bisher in der Literatur beschriebenen Methoden benötigten als Untersuchungsmaterial Urin und Organe. Falls Blut untersucht wurde, handelte es sich um sowohl größere Blut- als auch Barbituratenmengen.

In einer Reihe von Tabellen wurden die Fälle zusammengefaßt, Barbitursäurederivate konnten noch Stunden nach der Aufnahme aus 1 ml Vollblut von uns nachgewiesen werden.

Die noch relativ geringe Anzahl von Versuchen läßt keine endgültigen Schlüsse zu. Es soll jedoch eine Möglichkeit aufgezeigt werden, wie man dem heute doch sehr aktuellen Problem, Arzneimittel und Verkehrssicherheit, begegnen könnte.

Literatur:

- 1) SOEHRING : Neue juristische Wochenschrift Heft 51
(1963)
Ref.: Oberstaatsanwalt Konrad Händel,
Waldshut
- 2) BUNDESÄRZTEKAMMER : Homotoxin Journal Nr.4, 1.8.1964 S. 87
- 3) BUNDESÄRZTEKAMMER : Homotoxin Journal Nr.4, S. 88
- 4) REMMER, H. : Arch. int. Pharmacodyn. 152 No. 3-4,
(1964)
- 5) LAVES W. : Münch. Med. Wsch. 35, 1427-1430 (1959)
- 6) OSTERHAUS E. : Arzneimittelforschung 12, 1079-1081
(1962) Sonderdruck
- 7) FÜHNER H. : Fühner-Wielands Slg Vergiftungsfälle
A 173 (1930)
- 8) ELBEL H. : Dtsch. Z. für ges. gerichtl. Med. 30,
218 (1938)
- 9) PETER H. : Dtsch. Z. für ges. gerichtl. Med. 31,
113 (1939)
- 10) JETTER u. McLEAN : Arch. Path. 36, 112 (1943)
- 11) CARRIERE, HURIEZ
WILLOQUET : C.R. Soc. Biol. (Paris) 116, 188 (1934)
- 12) ALLEGRI A. : Boll. Soc. ital. Biol. sper. 10, 48
(1935)
- 13) OLZYCKA L. : C.R.Soc. Biol. (Paris) 202, 1107 (1936)
- 14) DILLE J., AHLQUIST : J. Pharmacol. exp. Ther. 61, 385 (1937)
- 15) RAMSEY, HAAG : J. Pharmacol. exp. Ther. 88, 313 (1946)
- 16) SANDBERG F. : Acta physiol. scand. 22, 311 (1951)

- 17) SMITH, LOOMS : Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.) 78, 827
(1951)
- 18) BURROWS : S. Afr. med. J. 27, 1057 (1953)
- 19) FEARNs, HODGES : J. Pharm. Pharmacol. 5, 1041 (1953)
- 20) GRUBER jr. : Arch. int. Pharmacodyn. 102, 17
(1955)
- 21) ARCHER : Tex. Rep. Biol. Med. 14, 1 (1956)
- 22) WEINIG, SCHWED : Fortschr. Med. 74, 497 (1956)
- 23) ASTON, CULLUMBINE : Toxicol. appl. Pharmacol. 1, 65 (1959)
- 24) GRAHAM : Toxicol. appl. Pharmacol. 2, 14 (1960)
- 25) EEROLA : Ann. Med. exp. Fenn. 33, 253 (1955)
- 26) MØLLER : Ugeskr. Laeg. 114, 1785 (1952)
- 27) NAALSUND : T. norske Laegeforen. 75, 489 (1955)
- 28) STAHL : Dünnschichtchromatographie, Springer
Verlag 10-55 (1962)
- 29) CURRY : A.J. Forensic. Sci. 6, 411, (1961)
- 30) LOBANOV : Sud. med. Ekspert. 5, Nr. 4, 42 - 46,
(1962)
- 31) MITT. LEBENSMITTEL
HYGIENE (BAUMLER) : 48, 135-145, (1957)
- 32) FREY, EBERHARDT,
JUSTEMEYER : Arch. f. Toxicol. 18, 189 - 193 (1960)
- 33) ANTI ALHA : Ann. med. exper. et biolog. fenn. 30,
203 - 213 (1952)
- 34) CURRY : Brit. J. med. 1963 11, 1040 - 1041
- 35) TOSCHIO KAWAHARA : Jap. J. Legal. Med. 9, 116 - 130
(1955)

- 36) GWENDOLYN u.a. : J. of Forensic Sciences Vol 6, Nr. 4,
Octob. 1961
- 37) PREUSS : Arch. f. Toxicolog., Bd. 16, S. 190 -
195 (1956)
- 38) MOESCHLIN : Klinik u. Therap. der Vergiftungen
- 39) DEININGER : Arzneimittelforsch. 5, 472 (1955)
- 40) BROUGHTON, HIGGINS
BRIEN. : Lancet 1956 1, 180-184
- 41) SUNSHINE, HACKETT : Amer. J. Clin. Path. 24, 1133 - 1138
(1954)
- 42) WRIGHT : Quart. J. Med., N.S. 24, 95 - 108
(1955)

Herrn Prof. Dr. Walter Paulus möchte ich für die freundliche Überlassung der Arbeit meinen herzlichen Dank aussprechen.

Desgleichen gilt mein Dank Herrn Prof. Dr. H. Elbel für die Übernahme des Korreferates.

Ganz besonders möchte ich Herrn Dr. Sabino Goenechea für seine große Hilfe danken.

Lebenslauf

Am 5. April 1940 wurde ich, Marita Schreier, als zweites Kind der Eheleute Wilhelm Schreier und Johanna, geborener Josephs, in Köln-Ehrenfeld geboren.

Ostern 1947 wurde ich in die Volksschule zu Großkönigsdorf/Köln eingeschult und wechselte im August 1950 auf die Volksschule nach Daun/Eifel über.

Im Jahre 1952 begann ich mit der Sexta in Gerolstein und bestand am 2. März 1961 am Staatlichen Aufbaugymnasium in Wittlich die Reifeprüfung.

Im Sommer-Semester 1961 begann ich mein Medizinstudium an der Rheinischen-Friedrich-Wilhelms-Universität zu Bonn. Am 10. Oktober 1963 legte ich dort meine ärztliche Vorprüfung ab.

Im Februar 1967 habe ich meine ärztliche Prüfung bestanden.



